

Оригінальні дослідження Research, original papers

О.Д.Боягина¹
Ю.П.Костиленко²

¹ Харьковский национальный медицинский университет

² ВГУЗ «Украинская медицинская стоматологическая академия»
Полтава

Ключевые слова: мозолистое тело, миелоархитектоника, фибриллярные астроциты, интерфасцикулярные олигодендроциты.

Надійшла: 19.10.2016

Прийнята: 26.11.2016

УДК: 611.813.9.018.8-053.8

МИКРОАРХИТЕКТОНИКА МОЗОЛИСТОГО ТЕЛА ЛЮДЕЙ ЗРЕЛОГО ВОЗРАСТА

Исследование проведено в рамках научно-исследовательской работы «Морфологические особенности органов и систем тела человека на этапах онтогенеза» (номер государственной регистрации 0114U004149).

Реферат. Цель данного исследования – выяснение принципа организации мозолистого тела на микроскопическом уровне. Материалом служили пластинки предварительно фиксированных в 10% растворе нейтрального формалина тотальных препаратов мозолистого тела людей в возрасте от 36 до 60 лет. Установлено, что в мозолистом теле вся транспортная система, осуществляющая процессы микроциркуляции жидкости, направлена на обеспечение функционального и структурного постоянства только миелиновых оболочек нервных волокон. Это положение может оказаться верным по отношению ко всему белому веществу головного мозга, к которому, по-видимому, не применима концепция о гематоэнцефалическом барьере.

Morphologia. – 2016. – Т. 10, № 4. – С. 12-17.

© О.Д.Боягина, Ю.П.Костиленко, 2016

✉ olya-boyagina@yandex.ru

Boiagina O.D., Kostilenko Ju.P. Microarchitectonics of the corpus callosum of mature people.

ABSTRACT. Background. The structural principle of the corpus callosum organization at the microscopic level remains unsolved. **Objective.** The purpose of this study is to consider the principle of the corpus callosum organization at the microscopic level. **Methods.** Excised flat plates (2 mm thick) made from pre-fixed whole mounts of the corpus callosum of 5 men and 5 women aged from 36 to 60 years were used in the study. These plates were divided into two groups. One of the groups was subjected to the impregnation in 1% osmium tetroxide solution, and then these plates were platinated in the epoxy resin. After complete polymerization the resulting blocks were used to make serial semithin sections. To stain these sections 1% solution of methylene blue on 1% borax solution was used and the latter mixed with the basic fuchsin and Azur-1. **Results.** The study of these serial sections in a sequential order made it possible to determine the nature of the configuration change of corpus callosum tissue microscopic structures in the depth of the three-dimensional extension and determine the spatial interrelation between them. **Conclusion.** The entire transportation system of corpus callosum, carrying out the processes of liquid microcirculation with nutrients dissolved, is entirely focused on providing functional and structural permanence of the myelin sheaths of nerve fibers only. Actually, this statement may be true (in case of further studies) in relation to all the white matter of the brain, as it appears that the concept of the blood-brain barrier, serving as selective mediation of metabolism between blood and the bodies of nerve cells in the gray matter cannot be applied here.

Key words: the corpus callosum, myeloarchitectonics, fibrous astrocytes, interfascicular oligodendrocytes.

Citation:

Boiagina OD, Kostilenko JuP. [Microarchitectonics of the corpus callosum of mature people]. Morphologia. 2016;10(4):12-7. Russian.

Введение

По общепринятым в нейроморфологии канонам при описании белого вещества головного мозга, включая спаянные образования, употребляют термин «миелоархитектоника» в отличие от «цитоархитектоники», обозначающей определенный порядок распределения нервных клеток в

сером веществе. При этом не учитывается, что белое вещество состоит не только из совокупности миелинизированных нервных волокон, но и организующих их особых специализированных клеточных элементов, без которых понять его структурную организацию нельзя. Не считая микроглии, к собственно клеточным элементам

белого вещества относятся, как известно, две популяции макроглии – это фибриллярные астроциты и интерфасцикулярные олигодендроциты, цитофизиологические свойства которых хорошо известны [1-6]. Согласно данным литературы, в составе мозолистого тела они находятся в соотношении 1:4 соответственно. Кроме того, ориентировочно можно говорить, что первые из них связаны с кровеносными сосудами, а вторые непосредственно ассоциированы с нервными волокнами. Исходя из этого, учитывая вектор транспортных процессов, обеспечивающих трофику белого вещества, можно себе представить предельно упрощенную линейную схему взаимосвязи между данными структурными элементами таким образом: кровеносный сосуд – фибриллярный астроцит – интерфасцикулярный олигодендроцит – нервные волокна. Очевидно, что такое представление является неполноценным, ибо оно не учитывает их общность, выраженную в объемном соотношении между собой.

Иными словами, в настоящее время остается нераскрытым конструктивный принцип организации мозолистого тела на микроскопическом уровне, где следует искать ответы, касающиеся особенностей его функционирования. Выяснение этого вопроса и является **целью** нашего исследования.

Материалы и методы

Исходным материалом служили иссеченные плоские пластинки (толщиной 2 мм) из предварительно фиксированных в 10% растворе нейтрального формалина тотальных препаратов мозолистого тела мужчин и женщин в возрасте от 36 до 60 лет. Получение этих препаратов было обеспечено благодаря договору между Харьковским национальным медицинским университетом и Харьковским областным бюро судебно-медицинской экспертизы.

Полученные таким образом тонкие пластинки стандартизированной толщины мозолистого тела разделяли на две группы, одну из которых подвергали импрегнции в 1% растворе четырехоксида осмия, как это принято в трансмиссионной электронной микроскопии. Другими словами, мы получали раздельно неосмированные и осмированные тканевые образцы мозолистого тела, которые затем подвергали пластикации в эпоксидной смоле, с той лишь разницей, что для первых использовали ее технический аналог в виде эпоксидного клея «Химконтакт-Эпокси», а для других (осмированных) – эпон-812 [7].

После полной полимеризации из полученных блоков были изготовлены серийные полутонкие срезы с помощью ротационного микротомата, оснащенного приставкой для фиксации стеклянных ножей, красителями для которых служили 1% раствор метиленового синего на 1% растворе буры, а также последний в смеси с фуксином основным и Азуром-1.

Изучение срезов и микросъемка осуществлены с помощью светового микроскопа «Конус», оснащенного цифровой фотоприставкой.

Результаты и их обсуждение

Изучение данных серийных срезов в последовательном порядке их рассмотрения позволило определить характер конфигурационного изменения тканевых микроскопических структур мозолистого тела по глубине их трехмерного протяжения и установить между ними пространственную взаимосвязь. Но прежде имеет смысл познакомиться с тем, как выглядят данные структуры на полутонких срезах, ибо в литературе сходные примеры отсутствуют.

Сначала проведем их опознание на срезах неосмированной ткани при монохромной окраске метиленовым синим. Следует отметить, что при стремлении различить самые малые структуры мозолистого тела, которыми являются нервные волокна, потребовалось большое увеличение микроскопа. При объективе 40 они в своей массе представляют базофильные поля, разделенные разными по конфигурации интерстициальными просветами (рис. 1А). Присмотревшись, можно различить, что эти поля состоят из чрезвычайно плотной совокупности коротких, косо и поперечно срезанных, стержневых структур со светлой окружностью, из которых выступают в виде базофильных черточек отростки (нейриты) нервных клеток, придающие общему фону пунктирную исчерченность. Понятно, что светлые окружности, их окаймляющие, являются миелиновыми оболочками нервных волокон. Здесь уместно отметить одну интересную особенность, состоящую в том, что в какой бы плоскости сечения мозолистого тела мы не рассматривали срезы, ни на одном из них нам не пришлось проследить нервные волокна хотя бы в частичном продольном направлении. Этому может быть дано два объяснения. Первое – возможно, что, проходя через мозолистое тело, нервные волокна изменяют свое контрлатеральное направление; второе – не исключен их извилистый волнообразный характер прохождения. Но может быть и то, и другое. Решить данный вопрос с помощью серийных полутонких срезов нам не удалось.

Следующей типичной чертой полутонких срезов неосмированной ткани, окрашенных метиленовым синим, является то, что по всему однообразному полю, дробно усеянному миелинизированными нервными волокнами, вразброс находятся выделяющиеся интенсивностью базофилии цитоплазмы интерфасцикулярные олигодендроциты. Максимальное увеличение светового микроскопа позволяет визуализировать отходящие от них такой же базофилии отростки, которые внедряются в пучки нервных волокон.

Более различимую полихромную картину приобретают полутонкие срезы неосмированной ткани мозолистого тела при их окраске смесью

основного фуксина с Азуром-2 (Азур-1 + метиленовый синий). В таком случае все поля, занятые плотными совокупностями нервных волокон, приобретают розовый фон, на котором различаются слегка просветленные ячейки, содержащие клеточные элементы, которые распознаются по окрашенному в синий цвет ядерному хроматину, распределение которого типично для интерфасцикулярных олигодендроцитов (рис. 1Б).

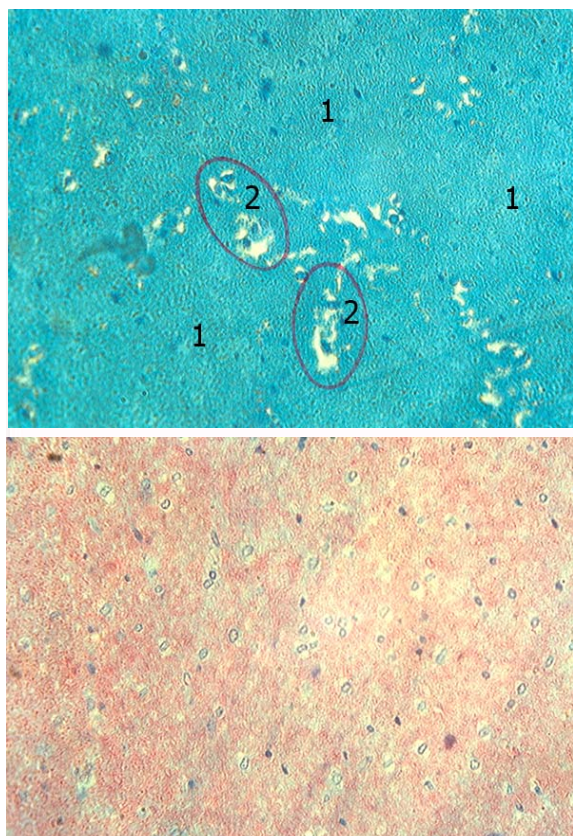


Рис. 1. А. Микроструктура комиссуральных канатиков (в поперечном сечении) мозолистого тела взрослого мужчины. 1 – общий зернистый фон, представлен плотной компоновкой нервных волокон, среди которых рассредоточены в виде синих вкраплений интерфасцикулярные олигодендроциты; 2 – интерстициальные прослойки, в которых находятся кровеносные микрососуды и фибриллярные астроциты (окаймлены красными окружностями). Полутонкий срез неосмированной ткани. Окраска метиленовым синим, $\times 40$. Б. Микроструктура комиссуральных канатиков мозолистого тела взрослой женщины. Полутонкие срезы неосмированной ткани. Общий зернисто-розовый фон, представлен плотной компоновкой миелинизированных нервных волокон, среди которых в ячейках рассредоточены интерфасцикулярные олигодендроциты. Полихромная окраска (Фуксин основной+Азур+метиленовый синий). $\times 40$.

Но данная полихромная окраска обладает одним недостатком, состоящим в том, что при ней происходит закрашивание и межфасцикулярных интерстициальных прослоек, которые становятся в результате этого слабо различимы-

ми на фоне остальных структур. Этого недостатка лишены срезы при монохромном их окрашивании метиленовым синим, при котором интерстициальные прослойки выглядят в виде разных по конфигурации разветвленных светлых щелей, являющихся зонами расположения кровеносных микрососудов в тесных отношениях со вторым типом глиальных клеток – фибриллярными астроцитами (рис. 1А). На этих образованиях мы должны сосредоточить особое внимание, ибо именно они являются организующими структурами миелоархитектоники мозолистого тела.

Для их структурного анализа самыми подходящими оказываются полутонкие срезы осмированных тканей мозолистого тела, для которых дополнительным красителем служил только метиленовый синий. Однако в некоторых случаях он оказывался излишним. На рис. 2 представлена наиболее характерная подборка микрофотографий обзорного плана.

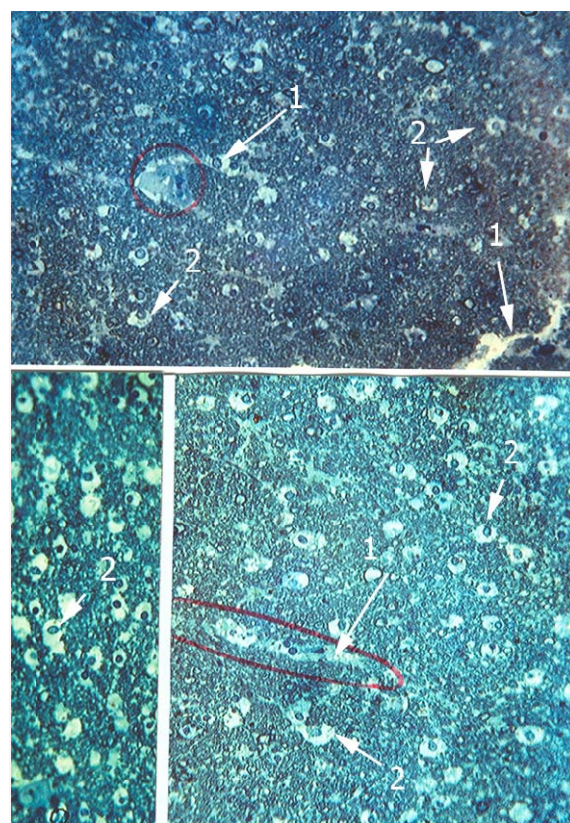


Рис. 2. Микроструктура фасцикулярных порционных мозолистого тела взрослых мужчины (А) и женщины (Б). Полутонкие срезы осмированной ткани. Окраска метиленовым синим, $\times 40$. Внизу слева вставка, иллюстрирующая продольную рядность расположения интерфасцикулярных олигодендроцитов. 1 – межфасцикулярные прослойки интерстиция (красной окружностью очерчено место нахождения фибриллярного астроцита); 2 – интерфасцикулярные олигодендроциты среди миелинизированных нервных волокон разной толщины.

Она демонстрирует качественное преиму-

щество данного метода по сравнению с предыдущим, что выражается прежде всего в отчетливо разборчивом характере выявления миелинизированных нервных волокон, которые становятся различимы по отдельности за счет более четкой контурности миелиновых оболочек. Но самой броской чертой данных препаратов является отчетливо выразительный ячеистый характер кластерного распределения среди них интерфасцикулярных олигодендроцитов, который позволяет наглядно оценить их долевого состав в общей миелоархитектонике мозолистого тела.

На этих же снимках (рис. 2) фрагментарно обнаруживаются и межфасцикулярные прослойки интерстиция, которые содержат микрососудисто-астроцитарные комплексы. Следует отметить, что не всегда на одном срезе их удается визуализировать вместе. Но просмотр срезов по глубине серийной выборки, а также многочисленные наблюдения, позволяют достоверно говорить: если в пределах интерстициальной прослойки мы видим тело фибриллярного астроцита, то это указывает на место рядом расположенного кровеносного микрососуда, и наоборот. Это положение призван проиллюстрировать рис. 3, где на верхнем снимке видно тело астроцита, цитоплазма которого полностью охватывает частично попавший на срез поперечный профиль капилляра, тогда как на нижнем снимке (почти в центре) находится в поперечном сечении артериола, к стенке которой только с одной стороны примыкает часть астроцита с отходящими от него в разные стороны отростками, один из которых проникает глубоко во внутрифасцикулярную прослойку. Кстати сказать, согласно данным литературы и собственным наблюдениям, отростки фибриллярных астроцитов, имея тонкую ламеллярную (пластинчатую) форму, простираются в двух направлениях: одни из них прослоечно внедряются среди внутрифасцикулярных совокупностей нервных волокон, тогда как другие не теряют связи с кровеносным микрососудом, простираясь вдоль него до места контакта с противоположно ориентированным отростком другого (отдаленного от первого) астроцита.

В литературе существует представление, согласно которому фибриллярные астроциты и их отростки формируют сплошную, непрерывную оболочку вокруг соответствующего кровеносного сосуда (лимитирующая периваскулярная оболочка), которая полностью исключает прямой контакт между стенкой данного сосуда и нервными элементами. Результаты наших исследований не подтверждают, что это имеет место в мозолистом теле, ибо ламеллярные отростки периваскулярных (фибриллярных) астроцитов образуют прерывистый вокруг микрососуда слой, вследствие чего его стенка на большой площади оказывается отделенной от окружающего интерстиция только базальной мембраной. Поэтому

можно постулировать, что именно через эти «обнаженные» участки эндотелиальной стенки обменного микрососуда осуществляется поступление в интерстициальное пространство фильтрата плазмы крови. Возникает вопрос: каким образом данная жидкость с растворенными в ней питательными веществами будет достигать и распределяться среди нервных волокон? Дело в том, что, согласно нашим данным, среди самих их совокупностей кровеносные капилляры отсутствуют. На этот счет в литературе мы не нашли необходимых сведений.

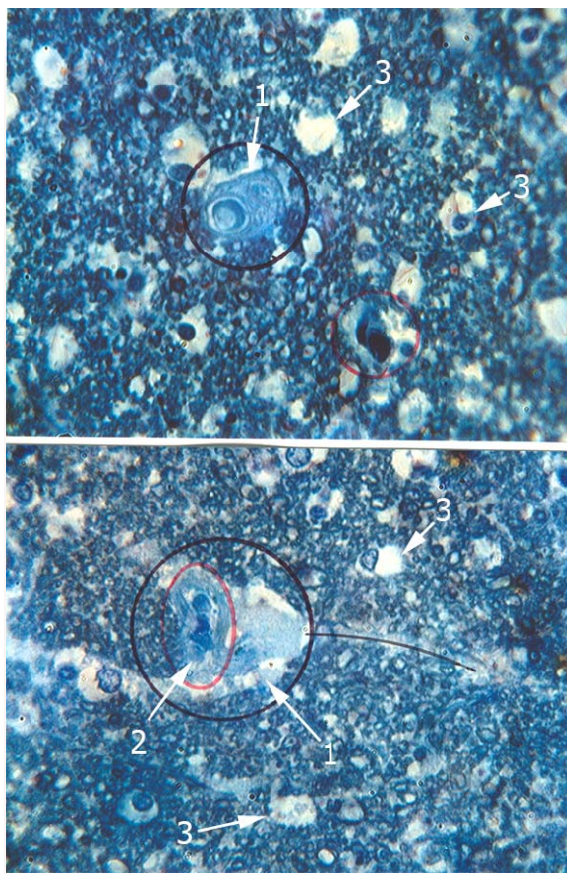


Рис. 3. Микроструктура фасцикулярных порционных мозолистого тела взрослых мужчины (А) и женщины (Б). 1 - межфасцикулярные прослойки интерстиция (красной и черной окружностями очерчены места нахождения кровеносных микрососудов, с прилежащими к ним телами фибриллярных астроцитов); 2 – артериола; 3 – интерфасцикулярные олигодендроциты среди миелинизированных нервных волокон разной толщины. Полутонкие срезы осмированной ткани. Окраска метиленовым синим, $\times 100$ (иммерсия).

Чтобы разобраться в этом вопросе, мы выбрали одну, наиболее подходящую для этой цели, микрофотографию, полученную с полутонкого среза осмированной ткани мозолистого тела, но без дополнительной окраски метиленовым синим, которую используем в качестве двухмерной микротопографической карты, демонстрирующей взаиморасположение между всеми рас-

смаатриваемыми структурами. Ниже нее помещен такой же (но не контрастированный) снимок, служащий для графической интерпретации принципиального характера взаимосвязей между ними (рис. 4).

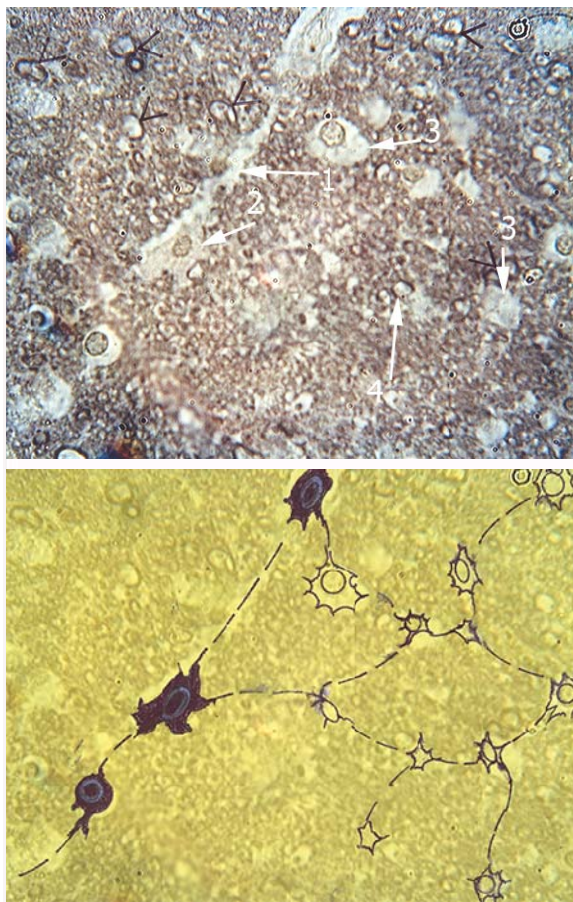


Рис. 4. Микроструктура фасцикулярных порционных мозолистого тела взрослой женщины. 1 – межфасцикулярные прослойки интерстиция; 2 – фибриллярные астроциты; 3 – interfасцикулярные олигодендроциты; 4 – миелинизированные нервные волокна разной толщины (стрелками обозначены некоторые толстые нервные волокна). Неокрашенный полутонкий срез осмированной ткани, $\times 1000$. Внизу приложена неокрашенная микрофотография, использованная в качестве интерпретации топологических отношений между фибриллярными астроцитами, interfасцикулярными олигодендроцитами и нервными волокнами.

На данной микрофотографии прежде всего мы находим узловое место в виде межфасцикулярной прослойки, в которой хорошо распознаются тела периваскулярных астроцитов (сам микрососуд оказался за пределами данного среза). На интерпретирующей схеме пунктиром указана между ними связь посредством их периваскулярных отростков. Обратим внимание, что от тела данных астроцитов отходят боковые цитоплазматические отростки, которые внедряются в среду нервных волокон.

Выясняя куда конкретно они направлены, и с какими внутрифасцикулярными структурами

они увязаны, обратим внимание на форму внутрифасцикулярных ячеек, в которых помещаются тела interfасцикулярных олигодендроцитов. Многочисленные наблюдения и отдельные показательные срезы дают основание говорить, что эти ячейки соединяются между собой посредством тончайших туннельных щелей, формирующих в фасцикулярных совокупностях нервных волокон своего рода сотовую сеть, отдельные ячейки которой имеют полигональную форму (пента- или гексагоны). Не подлежит сомнению, что в этих туннельных щелях находятся отростки расположенных по углам отдельных сот interfасцикулярных олигодендроцитов, так как это показано на интерпретирующей схеме рис. 4. Исходя из этого, мы считаем целесообразным выделять в миелоархитектонике мозолистого тела самые минимальные субмножества под названием сотовых порционных, которые погранично разделены микроскопическими туннельными щелями, с расположенными в них отростками олигодендроцитов. В связи с тем, что в этих зонах отсутствуют кровеносные капилляры, мы считаем, что по указанным туннельным щелям осуществляется просачивание интерстициальной жидкости, которая поступает из межфасцикулярных прослоек, являющихся местом дислокации обменных микрососудов.

Выводы

Согласно полученным данным между кровеносными микрососудами капиллярного типа и пучками миелинизированных нервных волокон мозолистого тела находится довольно распространенная по окружным сопредельным микрорегионам туннельная сеть интерстициальных щелей, которая, постепенно истончаясь, замыкается вокруг минимальных совокупностей нервных проводников (названных нами сотовыми порционными) посредством межтканевых ячеек, содержащих interfасцикулярные олигодендроциты.

Мы считаем, что циркулирующая по этой транспортной сети интерстициальная жидкость не может проникать в толщу самих сотовых порционных из-за предельно плотной сомкнутости между составляющими их миелинизированными нервными волокнами. Встает вопрос: каким же образом должна осуществляться их трофика?

Ответить на него можно, исходя из того понимания, что нервное волокно в отдельности состоит из собственно проводника, представленного в данном случае аксоном нервной клетки (находится в коре большого мозга) и миелиновой оболочки. В связи с этим следует полагать, что миелинизированные нервные волокна мозолистого тела имеют два трофических источника, а именно: обменные процессы отростков нервных клеток осуществляются путем аксонного (лонгитудинального) транспорта (направленного от тела нервной клетки), тогда как постоянное об-

новление миелиновых оболочек всецело обязано продуктивной деятельности интерфасцикулярных олигодендроцитов за счет развитого в них гранулярного эндоплазматического ретикула.

Таким образом, мы приходим к выводу, что в мозолистом теле вся транспортная система, осуществляющая процессы микроциркуляции жидкости с растворенными в ней питательными веществами, всецело направлена на обеспечение функционального и структурного постоянства только миелиновых оболочек нервных волокон. По существу это положение может оказаться

верным (при дальнейших исследованиях) по отношению ко всему белому веществу головного мозга, к которому, по-видимому, не применима концепция о гематоэнцефалическом барьере, выполняющем роль селективного опосредования обменных процессов между кровью и телами нервных клеток в сером веществе.

Перспективы дальнейших исследований заключаются в изучении структурной организации белого вещества головного мозга на ультраструктурном уровне.

Литературные источники References

1. Imperati D, Colcombe S, Kelly C, Di Martino A, Zhou J, Castellanos FX, Milham MP. Differential development of human brain white matter tracts. *PLoS One*. 2011;6(8):e23437. doi: 10.1371/journal.pone.0023437.
2. Livanov MN. [Study of the neural activity organization in the cerebral hemispheres of the brain]. Moscow: Nauka; 1971. 182 p. Russian.
3. Nemechek S. [Introduction to neurobiology]. Prague: Avicenum; 1978. 416 p. Russian.
4. Peters BD, Ikuta T, DeRosse P, John M, Burdick KE, Gruner P, Prendergast DM, Szeszko PR, Malhotra AK. Age-related differences in white matter tract microstructure are associated with cognitive performance from childhood to adulthood. *Biol Psychiatry*. 2014 Feb 1;75(3):248-56. doi:

10.1016/j.biopsych.2013.05.020.

5. Raybaud C. The corpus callosum, the other great forebrain commissures, and the septum pellucidum: anatomy, development, and malformation. *Neuroradiology*. 2010 Jun;52(6):447-77. doi: 10.1007/s00234-010-0696-3.

6. Sala S, Agosta F, Pagani E, Copetti M, Comi G, Filippi M. Microstructural changes and atrophy in brain white matter tracts with aging. *Neurobiol Aging*. 2012 Mar;33(3):488-498.e2. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2010.04.027.

7. Kostilenko IuP, Boiko IV, Starchenko II, Prilutskii AK. [Method of producing histological preparations, equivalent to the large-area semithin sections, for multipurpose morphological studies]. *Morfologiya*. 2007;132(5):94-6. Russian.

Боягіна О.Д., Костиленко Ю.П. Мікроархітектоніка мозолистого тіла людей зрілого віку.

Реферат. Мета даного дослідження – з'ясування принципу організації мозолистого тіла на мікроскопічному рівні. Матеріалом служили пластинки попередньо фіксованих в 10% розчині нейтрального формаліну тотальних препаратів мозолистого тіла людей у віці від 36 до 60 років. Встановлено, що в мозолистому тілі вся транспортна система, яка здійснює процеси мікроциркуляції рідини, спрямована на забезпечення функціональної та структурної сталості тільки миелинових оболонок нервових волокон. Це положення може виявитися вірним по відношенню до всієї білої речовини головного мозку, до якої, мабуть, не можливо застосувати концепцію про гематоенцефалічний бар'єр.

Ключові слова: мозолисте тіло, міелоархітектоніка, фібрилярні астроцити, інтерфасцикулярні олигодендроцити.